



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/71, 9/88		(11) Numéro de publication internationale: WO 99/53080																																	
		(43) Date de publication internationale: 21 octobre 1999 (21.10.99)																																	
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/00874</p> <p>(22) Date de dépôt international: 14 avril 1999 (14.04.99)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 98/04638 14 avril 1998 (14.04.98) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): PIERRE FABRE MEDICAMENT [FR/FR]; 45, place Abel Gance, F-92100 Boulogne-Billancourt (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): CHEVALET, Laurent [FR/FR]; 2, rue des Acacias, F-74100 Annemasse (FR). ROBERT, Alain [FR/FR]; 12, rue de Romagny, F-74100 Annemasse (FR). BONNEFOY, Jean-Yves [FR/FR]; Les Noyers, F-74250 Le Sappey (FR). NGUYEN, Thien, Ngoc [FR/FR]; 7, Les Petits Hutins, Lathoy, F-74160 Saint-Julien-en-Genevois (FR).</p> <p>(74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Reginbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).</p>																																			
<p>(81) Etats désignés: AU, BR, CA, CN, JP, MX, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</p>																																			
<p>(54) Titre: NOVEL CONSTRUCTS FOR CONTROLLED EXPRESSION OF RECOMBINANT PROTEINS IN PROKARYOTIC CELLS</p> <p>(54) Titre: NOUVELLES CONSTRUCTIONS POUR L'EXPRESSION CONTROLEE DE PROTEINES RECOMBINANTES DANS DES CELLULES PROKARYOTES</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns a novel construct for expressing a gene coding for a recombinant protein of interest placed under the control of the Ptp tryptophan operon promoter in a prokaryotic host cell. The invention is characterised in that the construct comprises a nucleic sequence capable of inactivating the gene coding for a TnaA tryptophanase when said nucleic sequence is introduced in said host cell. The invention also concerns vectors containing said construct and host cells transformed by said vectors. The invention further concerns methods for producing said recombinant proteins using said novel constructs.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>L'invention comprend une nouvelle construction pour l'expression d'un gène codant pour une protéine recombinante d'intérêt placé sous le contrôle du promoteur de l'opéron tryptophane Ptp dans une cellule hôte prokaryote, caractérisée en ce que la construction comprend une séquence nucléique capable d'inactiver le gène codant pour une tryptophanase TnaA lorsque ladite séquence nucléique est introduite dans ladite cellule hôte, des vecteurs contenant ladite construction et les cellules hôtes transformées par lesdits vecteurs. L'invention a également pour objet les procédés de production desdites protéines recombinantes utilisant ces nouvelles constructions.</p>																																			
<table border="1"> <caption>Data for Figure A: Optical Density at 590 nm vs Time (hours)</caption> <thead> <tr> <th>Sample</th> <th>Time (hours)</th> <th>Optical Density (OD 590 nm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2</td> <td>15</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>18</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>22</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>25</td> <td>12</td> </tr> </tbody> </table> <p>A</p> <table border="1"> <caption>Data for Figure B: Optical Density at 590 nm vs Time (hours)</caption> <thead> <tr> <th>Sample</th> <th>Time (hours)</th> <th>Optical Density (OD 590 nm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2</td> <td>15</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>18</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>22</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>25</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>25</td> <td>35</td> </tr> </tbody> </table> <p>B</p>			Sample	Time (hours)	Optical Density (OD 590 nm)	2	15	2	3	18	3	4	22	4	5	25	12	Sample	Time (hours)	Optical Density (OD 590 nm)	2	15	2	3	18	3	4	22	4	6	25	6	7	25	35
Sample	Time (hours)	Optical Density (OD 590 nm)																																	
2	15	2																																	
3	18	3																																	
4	22	4																																	
5	25	12																																	
Sample	Time (hours)	Optical Density (OD 590 nm)																																	
2	15	2																																	
3	18	3																																	
4	22	4																																	
6	25	6																																	
7	25	35																																	